Rev. Écol. Biol. Sol, 1984, **21** (4) : 455-476.

Colonisation fongique de feuilles vivantes et de litière de Charme, *Carpinus betulus* L. : Étude préliminaire [1]

PAR

J. MOUCHACCA * et P. GEOFFROY **

* *Lab. de Cryptogamie, 12, rue Buffon, F-75005 Paris*
et ** *Lab. de Zoologie de l'E.N.S., 46, rue d'Ulm, F-75005 Paris*

Synopsis : Hornbeam, *Carpinus betulus* L., living and dead leaves were examined by several complementary methods for the presence of fungi. Continuous screening over 30 d. of large foliar surfaces incubated in damp-chambers proved to be essential for a rigorous delimitation of the various ecological groups of fungi participating in the process of colonisation and decomposition of these leaves.

Keywords : Microfungi, phylloplane, litter, Hornbeam, *Carpinus betulus* L., colonisation, decomposition, damp-chambers, methodology.

INTRODUCTION

Depuis que RUINEN a, en 1961, attiré l'attention sur le fait que la phyllosphère demeurait, en ce qui concerne sa facette microbiologique, un *milieu* totalement négligé par les chercheurs, nos connaissances sur les champignons épiphylles des feuilles vivantes se sont considérablement accrues. Des ouvrages récents (PREECE et DICKINSON, 1971 ; DICKINSON et PREECE, 1976 ; BLAKEMAN, 1981) ont synthétisé les travaux concernant la colonisation microbienne des parties aériennes des plantes et plus particulièrement de leurs surfaces foliaires. Dans plusieurs des travaux présentés dans ces ouvrages et dans quelques études plus récentes, comme celle de RODGER et BLAKEMAN

(1) Ce travail a été réalisé au Lab. de Cryptogamie du M.N.H.N. dans le cadre d'un D.E.A. d'Écologie, Université Paris VI et École Normale Supérieure de Paris.
Reçu le 10-5-1984.
Accepté le 23-7-1984.

(1984), les chercheurs ont centré leurs efforts sur les feuilles vertes, à l'exclusion des tissus végétaux sénescents et de la litière. D'autres investigateurs, ont, à l'inverse, tenté d'appréhender le rôle des micro-organismes dans la décomposition de la litière sans prendre en considération, de manière approfondie, la microflore des feuilles vertes (DICKINSON et PUGH, 1974 ; VISSER et PARKINSON, 1975) ; à cet égard, HUDSON a, en 1968, présenté une analyse détaillée des travaux importants réalisés, en particulier sur les modes de succession des champignons décomposeurs de débris végétaux gisant sur la surface du sol. Toutefois, comme le constatent MISHRA et DICKINSON (1981), comparativement peu d'études ont été planifiées afin de suivre la colonisation fongique des feuilles dès leur expansion initiale jusqu'à leur incorporation dans les couches de la litière.

Pour ce qui a trait aux organes foliaires des essences caducifoliées, des modalités de successions fongiques ont été mises en évidence pour certaines de leurs litières par WITKAMP (1960), HERING (1965) et HOGG et HUDSON (1966), successions dont l'étude a été amorcée par SAITO (1956) lors de son examen de la décomposition des feuilles mortes du Hêtre par les champignons. Des analyses de feuilles vivantes pour la détermination des éléments fongiques participant aux premières étapes de leur colonisation ont été réalisées par HERING (1965) pour quelques espèces d'arbres feuillus et par HOGG et HUDSON (1966) pour *Fagus sylvatica* L. ; cependant seuls ces derniers paraissent avoir étudié de jeunes feuilles vivantes. RUSCOE (1971) a décrit la succession des micromycètes sur les organes foliaires de *Nothofagus truncata* (Col.) Ckn. tout au long de leur cycle de vie : premières phases de croissance, maturité, sénescence et mort. VISSER et PARKINSON (1975) ont, au cours de leurs travaux axés sur la décomposition de la litière du Tremble, pris en considération les feuilles vertes de cette plante. De même, WILDMAN et PARKINSON (1979) analysant l'association des champignons avec les feuilles vivantes et sénescentes de *Populus tremuloides* Michx., ont également intégré dans cette analyse les micromycètes liés aux feuilles fraîchement tombées de cet arbre. Enfin, en ce qui concerne le Charme, PROTH (1978) a suivi du point de vue microbiologique et ultrastructural, le processus de biodégradation de ses organes foliaires sans considérer, toutefois, le rôle des champignons dans ce processus.

Le Charme, *Carpinus betulus* L., croît en Europe principalement dans les zones tempérées centrales et sud-orientales. En France, il est abondant dans l'est et le nord-est, rare dans l'ouest et absent dans le sud (FOURNIER, 1961). Le Charme s'installe dans les régions de plaine ou de collines ; il s'accomode de terres argileuses et ne craint pas le calcaire. Essence sociale, il constitue la base des taillis dans le nord-est. Le Charme remplit un rôle très important dans certaines futaies en complétant les peuplements, abritant et amendant efficacement le sol ; il permet ainsi la libre végétation d'essences d'élite (Chêne). Son bois lourd, dur, homogène est difficile à travailler ; il possède toutefois une grande puissance calorifique, d'où son importance économique.

Cette première approche du processus de la colonisation fongique des organes foliaires du Charme sera réalisée par l'examen de deux échantillons mensuels, collectés au printemps, de feuilles vivantes et mortes de cette essence végétale. Au cours de cette étude, nous allons tenter d'appréhender

les éléments fongiques colonisant les feuilles vertes lors de la période d'échantillonnage et ceux actifs, à cette même période, au niveau de la litière. Les analyses fongiques effectuées feront appel à diverses techniques ; ceci permettra d'apprécier leurs modalités analytiques.

I. — MATÉRIELS ET MÉTHODES

Le matériel végétal examiné au cours de ce travail provient d'une Chênaie à Charme de la station biologique de Foljuif située dans le bois de la Commanderie, massif de Fontainebleau. Des feuilles vivantes et de litière de Charme ont été collectés, au hasard et dans un même site, le 1er mai et le 1er juin. Pour chaque type de feuille, vingt spécimens ayant une longueur maximale de 9 cm et, dans le cas de la litière, présentant le minimum de signes de décomposition, ont été sélectionnés. Pour l'étude des échantillons du phylloplan, trois techniques furent employées : incubation en chambres humides, isolement en culture après lavage de disques foliaires et isolement à partir de disques lavés ayant ou non subi une stérilisation superficielle. Dans le cas de la litière, seule la première méthode a été appliquée.

— Incubation en chambres humides (CH) : Après le nettoyage des surfaces foliaires de déjections d'insectes et de débris divers, les feuilles sélectionnées sont placées dans des boîtes de Pétri stériles garnies d'une couche de quatre épaisseurs de papier filtre que l'on imbibe d'eau stérile (KEYWORTH, 1951).

Pour appréhender l'impact du paramètre « surface foliaire incubée », chaque lot de vingt feuilles est divisé en deux parties égales : la première réunit des feuilles entières. Chaque élément de la seconde est coupé longitudinalement et une moitié est introduite dans une CH (l'autre moitié de chacune de ces feuilles fournira les disques qui seront soumis à un processus de lavage). Les CH contenant des feuilles entières ou des demi-feuilles sont ensuite mises en incubation à 23 °C et examinées régulièrement pendant 30 j. Lors de cette étude, seuls les isolements de champignons représentant des ascomycètes et des champignons imparfaits ont été identifiés au niveau de l'espèce. La présence des sphaeropsidales et des zygomycètes a été cependant enregistrée.

— Isolement en culture après lavage de disques foliaires vivants : Cette technique fournit une estimation de la charge sporale par unité de surface foliaire et les taux d'abondance des espèces fongiques représentées.

Dans chaque moitié d'une feuille, on prélève un disque de 4 mm de diamètre. Le lot de dix disques, suspendu dans 20 ml d'eau stérile additionnée de Tween 80 à 0,005 % (DICKINSON, 1965), est agitée pendant 2 min. ; cette procédure est répétée une vingtaine de fois avec collecte successive des eaux de lavage. 1 ml d'eau de lavage est ensuite introduit dans une boîte de Pétri axénique. Cet inoculum est alors réparti dans 15 ml de l'un ou l'autre des deux substrats nutritifs gélosés employés : extrait de malt à 2 % et milieu à base de cellulose (EGGINS et PUGH, 1962). Pour chaque milieu, dix boîtes de Pétri ont été ensemencées. Après une période d'incubation de 7 j. à 23 °C, on procède au comptage des colonies ; celles-ci sont ensuite isolées et identifiées. Le lot de disques du mois de mai ayant servi à la mise au point de la méthode du lavage, seules les observations provenant de la récolte de juin seront présentées.

— Isolement en culture à partir de disques lavés et/ou non stérilisés : La stérilisation des surfaces externes permet d'isoler de façon spécifique les colonisateurs internes des tissus végétaux et de distinguer ces endophytes des champignons à développement simplement superficiel.

Chaque disque lavé est coupé en quatre quarts. Deux sont respectivement introduits dans une boîte de Pétri contenant du milieu solidifié à l'extrait de malt ou à base de cellulose. Les deux autres quarts subissent une stérilisation superficielle par immersion

pendant 1 min. dans une solution de 1 % de No_3Ag, suivi d'un lavage avec une solution de ClNa (1 %) et de cinq lavages successifs avec de l'eau stérile (DAVIES, 1935). Les fragments foliaires stérilisés sont ensuite répartis dans des boîtes de Pétri selon un schéma identique aux fragments non traités. Le total des quarante boîtes inoculées est alors mis en incubation à 23° C et régulièrement examiné.

II. — RÉSULTATS ET DISCUSSION

Avant de procéder à la synthèse des données expérimentales, il y a lieu de signaler que le suivi des surfaces foliaires introduites dans les CH a été, selon LINDSEY (1976), mené, dans l'ensemble, de deux manières : une courte période d'incubation (2 j.) présumée suffisante pour la sporulation d'espèces déjà établies sur la surface des feuilles (WEBSTER, 1956) ; une durée d'incubation plus longue (7 à 28 j.) permettant également aux champignons présents sous forme de propagules de se manifester (LINDSEY, 1976).

A) Caractéristiques quantitatives des séries chambres humides.

L'analyse de variance du nombre d'espèces et groupes systématiques dénombrés par feuille ou demi-feuille fait apparaître une absence de variation significative de ce nombre au sein des séries CH, résultant d'une réduction de la surface foliaire incubée et cela quelle que soit la nature vivante ou morte du matériel végétal examiné ; il en est de même pour une variation d'origine temporelle de ce nombre. En revanche, il s'avère que le nombre d'éléments fongiques recensés sur les réplicats feuilles mortes (FM) est significativement distinct de celui observé sur les réplicats feuilles vivantes (FV).

Analyse de variance du nombre d'éléments fongiques observés par feuille et demi-feuille

	DL	F
Variation entre FV et FM	1	28,60*
Variation d'origine temporelle	2	1,61
Variation liée à la surface foliaire incubée	4	0,14
	72	

La réduction de la surface foliaire incubée en CH, opérée dans le cadre de notre expérimentation, ne semble donc entraîner au sein de chacune des quatre séries analytiques, ni un infléchissement ni une consolidation du nombre moyen d'espèces dénombrées sur demi-feuilles en comparaison à celui observé sur feuilles entières (Tab. I). L'absence d'une telle corrélation pourrait, toutefois, résulter du faible volume de réplicats examiné par série ; d'autres essais avec un volume d'échantillonnage plus important sont donc nécessaires avant de conclure à un rejet définitif de cette modalité analytique. Quant à la variation d'origine temporelle, celle-ci se serait peut-être concrétisée si les séries FV et FM avaient porté sur un nombre plus élevé de collections mensuelles. A noter, enfin, que les recherches bibliographiques entre-

prises ne fournissent pas de données comparatives concernant le nombre d'espèces détectées par réplicat de matériel végétal examiné, plus particulièrement pour celui relatif aux phyllosphères.

En fonction de la nature vivante ou morte des feuilles incubées, les moyennes générales du nombre d'espèces par réplicat des séries FM se révèlent significativement plus marquées que celles des séries FV ; ceci ne devrait guère surprendre, l'activité de la colonisation fongique étant nécessairement plus intense au niveau de la litière. Néanmoins, le fait que l'écart numérique apparent entre ces deux couples de données globales ne soit pas très prononcé, suggère que l'intensité de l'activité fongique mise en évidence dans le phylloplan et évaluée sur la base de ce critère est d'égale importance.

Dans un deuxième temps, le classement, d'après la surface foliaire incubée, des éléments fongiques recensés au sein d'une même série indique que ces derniers se répartissent en trois sous-groupes (Tab. II). On note que, dans chaque série, l'effectif des espèces conjointement décelées sur feuilles entières et demi-feuilles est respectivement plus élevé que celui des champignons observés uniquement sur feuilles entières ou sur demi-feuilles. Pour les deux séries FV, la simple comparaison des effectifs de leurs trois

TAB. I

Nombre d'éléments fongiques observés par feuille ou demi-feuille : moyenne et écart-type, n = 10 (FV : feuille vivante ; FM : feuille morte ; M : moyenne par série analytique)

		Feuilles entières	1/2 feuilles	M
FV	mai	7,20 ± 1,81	7,10 ± 2,47	7,15 ± 2,11
	juin	6,70 ± 1,57	6,90 ± 0,88	6,80 ± 1,24
FM	mai	8,50 ± 1,96	8,00 ± 2,54	8,25 ± 2,22
	juin	8,20 ± 2,15	7,80 ± 2,49	8,00 ± 2,27

TAB. II

Répartition, en fonction de la surface foliaire incubée, des éléments fongiques recensés dans chaque série chambre humide

	FV		FM	
	mai	juin	mai	juin
Sur feuilles entières seulement	9	5	9	10
Sur 1/2 feuilles seulement	8	8	9	6
Sur feuilles et 1/2 feuilles	15	18	17	18
Total	32	31	35	34

sous-groupes respectifs révèle une absence d'écart numérique prononcé ; il en est de même pour ceux relatifs aux deux séries FM. D'autre part, l'analyse statistique des fréquences observées pour ces trois sous-groupes dans les séries mai FV et FM ne fait pas ressortir de variation significative ($^{x}2_{.05(2)} = 1,05$). On aboutit à une observation analogue si l'on confronte les mêmes fréquences expérimentales des séries juin FV et FM ($^{x}2_{.05(2)} = 1,81$). Il en découle une absence de variation d'origine temporelle concernant le total d'espèces recensées par série et cela quelle que soit la nature du matériel végétal incubé. Évaluée sur la base de ce critère, l'activité fongique mise en évidence au niveau de la litière ne paraît donc pas plus intense que celle soulignée pour le phylloplan, contrairement à l'observation dégagée à partir du nombre d'espèces recensées par réplicat ; on note cependant que le total respectif des espèces des séries FM est, comparativement, légèrement plus important.

B) **Mycoflore du phylloplan.**

Caractéristiques qualitatives des séries chambre humide : en faisant abstraction du paramètre « surface foliaire incubée », le regroupement des relevés floristiques des deux séries FV montre qu'un total de 45 espèces et groupes systématiques se recense à partir de leurs réplicats (Tab. III). Dix-huit, soit 40,0 % de ce total, figurent dans les deux relevés mensuels. Ce fonds commun de champignons qui concrétise les affinités floristiques prévalant entre ces deux relevés, rassemble la totalité des éléments fongiques conjointement détectés chaque mois sur feuilles entières et demi-feuilles et qui se caractérisent en outre par les plus fortes fréquences relatives observées ; parmi eux, seul *Aureobasidium pullulans* est omniprésent. Le relevé floristique global des séries FV réunit également vingt-sept espèces détectées seulement en mai ou en juin ; une bonne partie d'entre elles sont des éléments rares, n'ayant été isolés qu'une seule fois. Enfin, d'après les caractéristiques systématiques d'ordre général, ce relevé global comporte un basidiomycète et cinq ascomycètes ; parmi les champignons imparfaits recensés, le nombre d'espèces mucédinées dépasse de peu celui des dématiées : 19 et 17 espèces respectivement. La mise en évidence d'un effectif aussi important d'espèces mucédinées revêt une certaine importance, divers auteurs ayant suggéré que les conditions d'exposition à la lumière des feuilles vertes sont défavorables au développement des formes fongiques hyalines fragiles (Pugh et Buckley, 1971 b).

En ce qui concerne les espèces ayant montré les plus fortes fréquences relatives dans les CH, l'omniprésence d'*Aureobasidium pullulans* sur les réplicats FV du Charme s'accorde avec la prépondérance constatée de ce micromycète sur les feuilles vertes d'autres essences caducifoliées (Hogg et Hudson, 1966 ; Ruscoe, 1971 ; Andrews et Kenerly, 1978). Pugh et Buckley (1971 a) précisent d'ailleurs que ce champignon se rencontre tout au long du cycle de vie des feuilles vertes d'*Acer pseudoplatanus* ; selon ces auteurs, *A. pullulans* serait présent de manière universelle sur les FV des plantes, une information qui serait probablement en corrélation étroite avec les fortes capacités de dégradation des substances pectiques par *A. pullulans* (Smit et Wieringa, 1953). L'*Alternaria alteranta,* presque omniprésent sur ces mêmes feuilles, est également une des espèces foliicoles les plus fréquemment citées dans

TAB. III

Champignons observés sur les feuilles vivantes après incubation en chambre humide : synthèse des expériences avec des feuilles entières et des demi-feuilles (T : total de détection ; P : présence)

ESPÈCE	N° de dét./série		T	% P
	mai	juin		
Aureobasidium pullulans	20	20	40	100
Alternaria alternata	17	19	36	90
Coelomycète sp. 1	18	9	27	68
Cladosporium cladosporioides	10	17	27	68
Sphaeropsidales spp.	12	5	17	38
Epicoccum purpurascens	4	9	13	33
Doratomyces microsporus	8	4	12	30
Loph. fuckelii var. *pulvuracea**	7	5	12	30
Paecilomyces farinosus	3	6	9	23
Acrodontium crateriforme	2	6	8	20
Penicillium raistrickii	3	4	7	18
Ulocladium atrum	5	2	7	18
Fus. sacchari var. *subglutinans***	4	2	6	15
Oedocephalum glomerulosum	3	2	5	13
Aspergillus versicolor	2	2	4	10
Aspergillus flavus	1	3	4	10
Stachybotrys atra	1	2	3	8
Aphanocladium album	1	1	2	5
Cladosporium oxysporum	3	—	3	8
Drechslera cynodontis	3	—	3	8
Trichoderma koningii	2	—	2	5
Cladosporium sphaerospermum	2	—	2	5
Torula herbarum	2	—	2	5
Curvularia lunata	2	—	2	5
Petriella setifera	1	—	1	3
Graphium putredinis	1	—	1	3
Fusarium sp.	1	—	1	3
Stephanosporium cereale	1	—	1	3
Chaetomium murorum	1	—	1	3
Botrytis cinerea	1	—	1	3
Aspergillus ustus	1	—	1	3
Drechslera biseptata	1	—	1	3
Zygomycètes spp.	—	3	3	8
Monochaetia monochaeta	—	2	2	5
Penicillium purpurogenum	—	2	2	5
Engyodontium album	—	2	2	5
Verticillium psalliotae	—	1	1	3
Fusarium equiseti	—	1	1	3
Chaetomium megalocarpum	—	1	1	3
Penicillium variabile	—	1	1	3
Penicillium cyclopium	—	1	1	3
Penicillium pulvillorum	—	1	1	3
Penicillium citreo-viride	—	1	1	3
Fusarium udum	—	1	1	3
Basidiomycète sp. 1	—	1	1	3

* *Loph.* = *Lophiostoma* ; ** *Fus.* = Fusarium.

les études portant sur la phyllosphère, en tant que micromycète épiphylle (DICKSON, 1976).

Le Coelomycète sp. 1, détecté sur la majorité des réplicats, ne se rattache à aucun des genres connus de ce groupe systématique (SUTTON, comm. pers.). Sur les réplicats FV, ce champignon forme de nombreuses acervules circulaires sous-épidermiques à mode de déhiscene irrégulier ; la présence de ces acervules n'est manifeste qu'après 1 à 2 semaines d'incubation des feuilles. Les caractéristiques de ces acervules rappellent celles de *Monostichella robergei* (Desm.) Höhnel, espèce-type de ce genre, décrite à l'origine sur des feuilles « languissantes » de Charme (SUTTON, 1980) ; le Coelomycète sp. 1 se distingue, toutefois, de ce dernier sur la base de critères d'ontogénie sporale. *Cladosporium cladosporioides*, recensé sur plus des deux-tiers des réplicats, n'est pas signalé comme élément important du phylloplan dans les premiers travaux concernant ce biotope où *C. herbarum* demeure le représentant du genre *Cladosporium* le plus fréquemment cité. Cependant, sur le Tremble, VISSER et PARKINSON (1979) ont constaté que *C. cladosporioides* se place en troisième position d'après sa fréquence relative ; ce champignon compte également parmi les quelques éléments dominants dans le phylloplan de l'Érable (RODGER et BLAKEMAN, 1984).

Epicoccum purpurascens n'a été détecté que sur un tiers des réplicats ; il figure aussi mais seulement dans une partie des listes de micromycètes foliicoles de diverses plantes (FRIEND, 1965 ; LINDSEY et PUGH, 1976). En revanche, *Doratomyces microsporus*, dénombré avec une même fréquence, ne semble pas avoir été antérieurement signalé dans le phylloplan ; sa présence sur le Charme, constitue une information qui mérite d'être confirmée. Il en est de même pour un ascomycète, *Lophiostoma fuckelii* var. *pulvuracea*, les espèces de *Lophiostoma* s'observant, en général, plutôt sur des tiges moribondes (CHESTERS et BELL, 1970).

Pour ce qui a trait aux feuilles vivantes des plantes, on admet que les champignons sont présents dès l'ouverture des bourgeons (WILDMAN et PARKINSON, 1979) et que leur nombre augmente avec la progression des saisons jusqu'à la chute des feuilles (HOGG et HUDSON, 1966 ; DICKINSON, 1967). Selon le schéma de colonisation des substrats non lignicoles par les champignons proposé par HUDSON (1968), les éléments fongiques se développant dans le phylloplan comportent, outre des parasites, des colonisateurs ubiquistes, des saprophytes primaires communs, et des colonisateurs saprophytes « à spectre d'hôtes restreint » ; selon cet auteur, les saprophytes primaires sont des ascomycètes et des champignons imparfaits parmi lesquels des espèces de *Cladosporium*, plus particulèrement *C. herbarum* et *C. cladosporioides*, *Alternaria alternata*, *Aureobasidium pullulans*, *Epicoccum purpurascens* et *Botrytis cinerea* et sont considérés comme étant présents sur la plupart des feuilles vertes examinées en régions tempérées. HUDSON précise que si le transport aérien des spores est à l'origine de la présence de ces champignons sur les surfaces foliaires des plantes hôtes, ces spores restent dans un état de dormance jusqu'au démarrage de la phase de sénescence des feuilles vertes. De nombreuses observations démontrent toutefois que le commencement de l'activité végétative de ces champignons foliicoles est antérieur à la phase de sénescence des feuilles vivantes (RUSCOE, 1971 ; PUGH et BUCKLEY 1971 b ; DICKINSON, 1976 ; WILDMAN et PARKINSON, 1979).

Sur la base du simple critère de présence-absence, toutes les espèces citées précédemment ont été détectées dans le phylloplan du Charme ; toutefois, à l'exception de *Botrytis cinerea* et *Cladosporium herbarum*, les autres champignons ont montré de fortes fréquences relatives dans les CH. Ces observations générales concernant cette plante ne s'accordent que partiellement avec celles du même ordre établies pour d'autres phyllosphères. Utilisant des disques foliaires lavés inoculés sur substrat gélosé, PUGH et BUCKLEY (1971 b) ont constaté que la mycoflore d'*Acer pseudoplatanus* se caractérisait, de mars à septembre, par une pauvreté relative en *Alternaria alternata* et *Botrytis cinerea*, une prépondérance d'*Aureobasidium pullulans* et *Cladosporium herbarum* et une bonne présence relative d'*Epicoccum purpurascens*. Étudiant la succession des champignons chez *Fagus sylvatica* par incubation de feuilles entières (mais examinées au bout de 2 j. seulement), HOGG et HUDSON (1966) précisent que le premier colonisateur est *Gnomonia errabunda*, représenté par sa forme imparfaite ; sur ces feuilles, *Cladosporium herbarum* se révèle l'élément le plus constant ; *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata* et *Aureobasidium pullulans* s'y détectent avec des fréquences relatives peu marquées mais *Epicoccum purpurascens* n'a pas été décelé.

Examinant des FV incubées de Tremble, WILDMAN et PARKINSON (1979) ont également noté que les fréquences relatives des espèces de *Cladosporium* dépassaient aussi celles des autres composants de ce groupe de colonisateurs primaires ; dans ces conditions, la fréquence relative d'*Aureobasidium pullulans* s'avère comparativement la plus faible et celle de *Botrytis cinerea* négligeable. Toutefois, à partir de disques foliaires inoculés de cette plante, *Botrytis cinerea* se situe en quatrième position relative devant *Epicoccum purpurascens* et *Alternaria alternata*, *Aureobasidium pullulans* étant alors l'élément prépondérant. Ces divergences constatées dans l'ordre d'importance relative de ces saprophytes et, en particulier, l'inversion totale concernant *A. pullulans* soulignent clairement l'impact des méthodes analytiques retenues sur les observations relatives aux mycoflores de la phyllosphère. En particulier, le choix d'une courte période d'incubation des surfaces foliaires aboutit nécessairement à la détection d'un petit groupe de champignons à développement végétatif et sporulation rapide ; à cet égard, il serait intéressant, lors des analyses ultérieures également conduites sur de longues périodes d'incubation, de distinguer dans les CH les espèces qui se manifestent au début de l'incubation de celles à apparition plus tardive.

Enfin, les discordances précédentes mises en évidence pour seulement une partie du spectre floristique de la phyllosphère, à savoir les saprophytes les plus ubiquistes dans ce biotope, tendent à s'accentuer si l'on introduit dans ces comparaisons les espèces dites « hôte-spécifique » et celles « à spectre d'hôtes restreint » (DICKINSON, 1967 ; HUDSON, 1968).

— Isolement en culture à partir de disques foliaires vivants :

Les données du lavage de disques foliaires (Tab. IV) soulignent que les éléments de propagation d'*Aureobasidium pullulans* sont à l'origine d'une part importante des colonies dénombrées dans les réplicats de chaque substrat nutritif employé et, en corollaire, de la charge sporale estimée. On note cependant que le milieu à base de cellulose apparaît sélectif dans le sens d'une réduction de la diversité spécifique par rapport au milieu à l'extrait

TAB. IV

Champignons isolés des eaux de lavage des feuilles vivantes collectées au mois de juin (N : nombre de colonies par espèce ; Ab. : abondance)

MILIEU	Malt		Cellulose	
	N	% Ab.	N	% Ab.
Aureobasidium pullulans	99	68,7	118	78,6
Cladosporium sp.*	12	8,3	7	4,7
Cladosporium cladosporioides	4	2,8	6	4,0
Fus. sacchari var. *subglutinans*	4	2,8	5	3,3
Hormonema sp.*	4	2,8	4	2,7
Sphaeropsidales spp	4	2,8	1	0,7
Botrytis cinerea	2	1,4	2	1,3
*Acremonium strictum**	1	0,7	3	2,0
Aspergillus flavus	1	0,7	2	1,3
Trichoderma koningii	1	0,7	1	0,7
*Penicillium brevi-compactum**	1	0,7	1	0,7
Zygomycètes spp	3	2,0		
Alternaria alternata	2	1,4		
*Aspergillus niger**	2	1,4		
Aspergillus versicolor	1	0,7		
Penicillium decumbens	1	0,7		
Paecilomyces farinosus	1	0,7		
*Melanconium atrum**	1	0,7		
Total de colonies	144		150	
Taux moyen/boîte	14,4		15,0	
Charge sporale/cm²	573		597	

* Champignons non observés en chambre humide.

de malt : des dix-huit éléments fongiques isolés sur ce dernier, seuls onze se sont manifestés dans les réplicats sur cellulose. Examinant le phylloplan du Tremble, WILDMAN et PARKINSON (1979) ont également noté, lors des essais préliminaires faisant intervenir plusieurs substrats nutritifs, que le milieu à l'extrait de malt aboutissait à la mise en évidence d'une diversité spécifique plus élevée. Quant à la charge sporale estimée pour les FV de Charme, il existe peu de données comparatives concernant cette caractéristique. Il s'avère cependant que BREEZE et DIX (1982) ont, en appliquant la technique des empreintes sur films, enregistré sur la surface adaxiale des feuilles d'*Acer pseudoplatanus* une charge sporale maximale trois fois plus élevée que celle observée sur le Charme et pour des feuilles sénescentes de Seigle, WITKAMP (1960) a obtenu des valeurs de charge sporale atteignant 15.000 spores/cm². Il est à penser que d'autres estimations sont nécessaires avant de conclure.

— Isolement en culture à partir de disques lavés et/ou non stérilisés :

La stérilisation superficielle de fragments de FV démontre que la particularité, pour un champignon, d'être un endophyte est peu répandue parmi les champignons foliicoles du Charme ; cette procédure analytique atténue également la diversité spécifique révélée à partir de fragments non traités et la moyenne d'espèces détectées de ces derniers (Tab. V). En effet, il se confirme que seuls quatre éléments fongiques sont capables de s'implanter à l'intérieur des tissus foliaires vivants de cette plante. Parmi ces endophytes, *Aureobasidium pullulans* voit son fort taux de détection sur les fragments non traités s'infléchir avec la stérilisation et se comparer alors au faible taux de détection de *Cladosporium cladosporioides* ; cet infléchissement suggère que le développement superficiel d'*Aureobasidium pullulans* sur les FV n'est pas, dans tous les cas, lié à une implantation de son mycélium dans les tissus foliaires internes. La stérilisation de fragments FV fait cependant ressortir une observation intéressante ayant trait à *Acremonium strictum,* hyphomycète ne figurant pas dans le relevé floristique des séries CH et qui se révèle l'élément le plus fréquemment détecté sur les fragments stérilisés.

TAB. V

Fréquences de détection des champignons se développant à partir de fragments de feuilles vivantes lavés stérilisés (S) ou non stérilisés (NS), sur milieu à extrait de malt (M) ou à cellulose (C) ; dix boîtes ont été utilisées par milieu et type de fragment

ESPÈCE	Fragment NS		Fragment S	
	M	C	M	C
Aureobasidium pullulans	10	6	3	3
*Acremonium strictum**	2	1	8	10
Cladosporium cladosporioides	2	1	3	4
Sphaeropsidales spp	2	1	1	—
Alternaria alternata	2	1		
Zygomycètes spp	1	3		
Botrytis cinerea	2	—		
*Aspergillus niger**	2	—		
Aspergillus flavus	1	—		
Cladosporium sp.*	1	—		
Acremonium pleridii	—	1		
*Penicillium brevi-compactum**	—	1		
Penicillium citrinum	—	1		
Penicillium cyclopium	—	1		
*Geotrichum candidum**	—	1		
Total de détections	25	18	15	17
Moyenne/inoculum	2,5	1,8	1,5	1,7

* Champignons non observés en chambre humide.

Le caractère endophyte d'*Aureobasidium pullulans*, noté sur le Charme, a déjà été signalé pour d'autres plantes dont des Angiospermes (PUGH et BUCKLEY, 1971 a ; DOMSCH *et al.*, 1980) ; toutefois, ce micromycète ne semble pas capable d'envahir les tissus internes des FV du Tremble où *Cladosporium cladosporioides* a été isolé (WILDMAN et PARKINSON, 1979). Quant à *Acremonium strictum*, il apparaît que les espèces de ce genre sont rarement signalées dans les travaux sur le phylloplan quoique MISHRA et DICKINSON (1981) considèrent *A. strictum* comme étant une des espèces épiphylles principales du Houx. RUSCOE (1971) a cependant noté que *Cephalosporium acremonium* et un *Acremonium* sp. s'isolaient de disques foliaires stérilisés de *Nothofagus truncata*, observation confirmée pour le premier sur *Hippophae rhamnoides* par LINDSEY et PUGH (1976) ; ces auteurs précisent, par ailleurs, que la stérilisation superficielle de disques, lavés ou non, a été très peu pratiquée dans l'ensemble. Il est donc probable que le spectre des champignons dits endophytes tend à s'élargir comme le montre la détection récente d'*Acremonium charticola* dans les tissus internes des feuilles sénescentes de *Populus tremuloides* (WILDMAN et PARKINSON, 1979).

Enfin, les deux techniques culturales précédentes, lavage et stérilisation, ont abouti à la détection de dix champignons non recensés dans les CH ; ceux-ci portent alors à cinquante-cinq le total d'éléments fongiques constituant le spectre floristique des FV du Charme.

C) **Mycoflore de la litière.**

La synthèse des données des séries FM indique que, au total, 47 espèces et groupes d'espèces ont été recensés (Tab. VI). Un peu moins de la moitié figurent dans les deux relevés floristiques ; ces champignons représentent la totalité des éléments conjointement observés dans chaque série sur feuilles entières et demi-feuilles : 17 et 18 espèces respectivement. Ce groupe constant dans les deux séries CH comportent les champignons ayant montré les plus fortes fréquences relatives et parmi lesquels deux ascomycètes (*Plagiostomella carpinicola* et *Plagiostoma rehmii*) et *Aureobasidium pullulans* sont présents sur tout les réplicats FM. Le spectre floristique global de la litière réunit également vingt-quatre espèces à mode d'apparition temporelle discontinu ; en fonction de leur taux de détection, la plupart d'entre elles sont des éléments rares.

Les deux ascomycètes omniprésents sur FM sont signalés comme étant spécifiques de la litière de Charme (MULLER et von ARX, 1962) ; toutefois, du fait que le cycle de vie de chacun d'entre eux n'est pas encore entièrement élucidé, il n'est guère possible de préciser si ces deux ascomycètes participent ou non à la colonisation des feuilles vertes de cette essence. Sur ces mêmes réplicats FM, la présence constante d'*Aureobasidium pullulans* se confirme d'ailleurs par l'observation directe de ses chaînes de chlamydospores. D'autre part, sur cette litière, un groupe de quatre dématiées se singularise par leurs fréquences de détection, comparativement les plus élevées ; ce sont, par ordre d'importance relative, *Cladosporium cladosporioides*, *Torula herbarum*, *Alternaria alternata* et *Epicoccum purpurascens*.

La comparaison de la composition du groupe des espèces prépondérantes sur les FM du Charme avec des données de même nature établies pour des

TAB. VI

Champignons observés sur les feuilles mortes après incubation en chambre humide : synthèse des expériences avec des feuilles entières et des demi-feuilles (T : total de détection ; P : présence)

ESPÈCE	N° de dét./série		T	% P
	mai	juin		
Plagiostomella carpinicola	20	20	40	100
Plagiostoma rehmii	20	20	40	100
Aureobasidium pullulans	20	20	40	100
Cladosporium cladosporioides	11	11	22	55
Torula herbarum	13	6	19	48
Alternaria alternata	12	5	17	43
Epicoccum purpurascens	7	9	16	40
Arthrobotrys superba	3	9	12	30
Dactylella sp.	4	7	11	28
Zygomycètes spp.	3	8	11	28
Sphaeropsidales spp.	5	4	9	23
Oedocephalum glomerulosum	3	4	7	18
Endophragmia alternata	4	2	6	15
Botrytis cinerea	4	2	6	15
Acremonium pteridii	3	3	6	15
Stachybotrys atra	3	3	6	15
Verticillium psalliotae	2	4	6	15
Paecilomyces farinosus	2	3	5	13
Acrodontium crateriforme	2	3	5	13
Pencillium daleae	1	1	2	5
Pencillium citrinum	1	1	2	5
Fus. sacchari var. *subglutinans*	1	1	2	5
Drechslera cynodontis	4	—	4	10
Trichoderma koningii	3	—	3	8
Curvularia lunata	3	—	3	8
Stemphylium botryosum	2	—	2	5
Aspergillus flavus	2	—	2	5
Spor. hyalosperna var. *hyalosperma**	1	—	1	3
Penicillium cyclopium	1	—	1	3
Cladosporum oxysporum	1	—	1	3
Doralomyces microsporus	1	—	1	3
Tricholhecium roseum	1	—	1	3
Monacrosporium cionopagum	1	—	1	3
Podospora sp.	1	—	1	3
Podospora inequalis	1	—	1	3
Penicillium thomii	—	2	2	5
Penicillium paxilli	—	2	2	5
Penicillium decumbens	—	1	1	3
Aspergillus ustus	—	1	1	3
Alternaria raphani	—	1	1	3
Periconia cookei	—	1	1	3
Hymenula cerealis	—	1	1	3
Geomyces pannorum var. *pannorum*	—	1	1	3
Cylindrium sp.	—	1	1	3
Calcarisporium sp.	—	1	1	3
Basidiomycète sp. 1	—	1	1	3
Basidiomycète sp. 2	—	1	1	3

* *Spor.* = *Sporidesmiella.*

litières d'autres plantes, révèle quelques discordances. Ainsi HERING (1965) examinant la mycoflore des FM d'une forêt mixte d'essences caducifoliées a noté que dans la litière fraîche seuls *Aureobasidium pullulans*, *Cladosporium* spp. et *Epicoccum purpurascens* étaient dominants. *Epicoccum purpurascens* est apparemment absent de la litière de *Fagus sylvatica* où, en plus des espèces précédentes, HOGG et HUDSON (1966) signalent la présence d'*Alternaria alternata* et de *Botrytis cinerea*, présent sur les FM du charme mais avec une fréquence relative peu marquée. A l'inverse, dans la litière du Tremble, les éléments dominants sont des formes dématiées stériles ; *Aureobasidium pullulans* et *Cladosporium* spp. s'y observent avec de très faibles fréquences (VISSER et PARKINSON, 1975). Quant à *Torula herbarum*, il ressort des recherches bibliographiques entreprises que cette dématiée n'avait pas encore été signalée dans les litières de plantes caducifoliées. Selon JENSEN (1974), ces quelques discordances dans la composition des éléments dominants des mycoflores de litière relatives à divers types de forêts seraient, en partie, dues à l'existence d'espèces fongiques spécifiques et, en partie, à l'utilisation de techniques dissemblables pour l'étude des champignons vivant dans ce biotope.

Dans un même ordre d'idées, si l'on considère les éléments fongiques ayant montré des fréquences relatives comparativement moins prononcées, *Arthrobotrys superba* et *Dactylella* sp. se singularisent par leurs particularités de prédateurs de nématodes ; à ce groupe biologique de micromycètes se rattache aussi le *Monacrosporium cionopagum*, mucédinée rare sur les FM du Charme.

D) **Localisation des champignons dans les deux biotopes examinés.**

Le regroupement des deux mycoflores mises en évidence pour le phylloplan et la litière du Charme révèle qu'au total 76 espèces et groupes systématiques ont été recensés. Toutefois, si l'on ne considère pas les quelques espèces des feuilles vertes isolées uniquement par la technique du lavage et l'inoculation directe de fragments foliaires (espèces parmi lesquelles *Penicillium decumbens*, *P. citrinum* et *Acremonium pteridii* ont été également isolés de FM), la synthèse des spectres floristiques des seules séries CH délimite les éléments fongiques uniquement détectés dans le phylloplan ou sur la litière et ceux observés dans ces deux biotopes (Tab. VII). Cet ensemble floristique élargi comporte 69 éléments fongiques ; ceux-ci se répartissent en un fonds commun regroupant vingt-trois composants, soit près d'un tiers du total, et en deux sous-ensembles liés à la nature des feuilles examinées et rassemblant chacun un nombre comparable de champignons : 22 espèces pour le phylloplan et 24 pour la litière.

La mise en évidence de ce fonds commun, numériquement riche en espèces, confirme l'existence de liens floristiques étroits entre les spectres fongiques du phylloplan et de la litière de Charme. Sur les feuilles vertes, ce fonds commun rassemble le petit groupe des saprophytes primaires, considérés comme ubiquistes dans les phyllosphères et dont les composants se rencontrent sur ces feuilles vertes avec des fréquences relatives élevées. Pour ce groupe de saprophytes, on note qu'*Aureobasidium pullulans* reste omniprésent dans la litière où les fréquences relatives des autres tendent à demeurer comparables (*Cladosporium cladosporioides* et *Epicoccum purpurascens*)

TAB. VII

Caractéristiques des deux spectres fongiques obtenus par observation de feuilles entières et de demi-feuilles incubées en chambres humides

ESPÈCE	FV % P	FM % P
Aureobasidium pullulans (de Bary) Arn.	100	100
Alternaria alternata (Fr.) Keissler	90	43
Cladosporium cladosporioides (Fresen.) de Vries	68	55
Sphaeropsidales spp.	38	23
Epicoccum purpurascens Ehrenb. ex Schlecht.	33	40
Doratomyces microsporus (Sacc.) Morton & Smith	30	3
Paecilomyces farinosus (Holm ex S. F. Gray) Brown & Smith	23	13
Acrodontium crateriforme (v. Beyma) de Hoog	20	13
Fusarium sacchari var. *subglutinans* (Wollenw. & Reink.) Nirenb.	15	5
Oedocephalum glomerulosum (Bull.) Sacc.	13	18
Aspergillus flavus Link	10	3
Drechslera cynodontis (Marignoni) Subram. & Jain	8	10
Cladosporium oxysporum Berk. & Curt.	8	3
Stachybotrys atra Corda	8	15
Zygomycètes spp.	8	28
Torula herbarum (Pers.) Link ex S. F. Gray	5	48
Curvularia lunata (Wakker) Boedijn	5	8
Trichoderma koningii Oudem.	5	8
Botrytis cinerea Pers. ex Pers.	3	15
Verticillium psalliotae Treschow	3	15
Aspergillus ustus (Bain.) Thom & Church	3	3
Penicillium cyclopium Westling	3	3
Basidiomycète sp. 1	3	3
Coelomycète sp. 1	68	
Lophiostoma fuckelii var. *pulvuracea* (Sacc.) Chesters & Bell	30	
Ulocladium atrum Preuss	18	
Penicillium raistrickii Smith	18	
Aspergillus versicolor (Vuill.) Tiraboschi	10	
Cladosporium sphaerospermum Penz.	5	
Penicillium purpurogenum Stoll	5	
Engyodontium album (Limber) de Hoog	5	
Monochaetia monochaetae (Desm.) Allescher	5	
Aphanocladium album (Preuss) W. Gams	5	
Graphium putredinis (Corda) Hughes	3	
Stephanosporium cereale (Thüm.) Swart	3	
Drechslera biseptata (Sacc. & Roum.) Richardson & Fraser	3	
Penicillium citreo-viride Biourge	3	
Penicillium pulvillorum Turfitt	3	
Penicillium variabile Sopp	3	
Fusarium equiseti (Corda) Sacc.	3	
Fusarium udum Butler	3	
Fusarium sp.	3	
Petriella setifera (Schm.) Curzi	3	
Chaetomium megalocarpum Bainier	3	
Chaetomium murorum Corda	3	

Espèce	FV % P	FM % P
Plagiostomella carpinicola v. Höhnel		100
Plagiostoma rehmii (Sacc.) v. Arx		100
Arthrobotrys superba Corda		30
Dactylella sp.		28
Endophragmia alternata Tubaki & Saito		15
Acremonium pteridii W. Gams & Frankland		15
Penicillium citrinum Thom		5
Penicillium daleae Zaleski		5
Penicillium paxilli Bainier		5
Penicillium thomii Maire		5
Stemphylium botryosum Wallr.		5
Sporidesmiella hyalosperma var. *hyalosperma* (Corda) P. M. Kirk		3
Alternaria raphani Groves & Skolko		3
Periconia cookei Mason & M. B. Ellis		3
Trichothecium roseum Link		3
Penicillium decumbens Thom		3
Hymenula cerealis Ell. & Ev.		3
Geomyces pannorum var. *pannorum* (Link) v. Oorschot		3
Cylindrium sp.		3
Calcarisporium sp.		3
Monacrosporium cionopagum (Drechsler) Subram.		3
Podospora sp.		3
Podospora inequalis (Cain) Cain		3
Basidiomycète sp. 2		3

ou à s'infléchir *(Alternaria alternata)*. *Doratomyces microsporus* se révèle plutôt un élément rare au niveau du sol. Il est à noter également que seuls *Aureobasidium pullulans* et *Cladosporium cladosporioides* se sont révélés capables de s'implanter à l'intérieur des tissus végétaux vivants, particularité qui leur confère sans doute un avantage dans le processus de colonisation des FM.

Ce fonds commun aux deux biotopes comporte également des espèces à fréquence relative moins élevée ou qui se qualifient, d'après nos données, d'éléments rares, aussi bien sur les FV que sur celles de la litière. On note cependant que *Torula herbarum* est nettement plus fréquent dans les réplicats de la litière où le groupe des zygomycètes se rencontre aussi plus souvent. Ces espèces du fonds commun représentent des saprophytes rarement cités dans la phyllosphère ; certaines sont toutefois capables de se comporter en pathogènes ou possèdent des liens particuliers avec les insectes *(Paecilomyces farinosus)*. Quant au Basidiomycète sp. 1, sa présence dans les deux spectres fongiques, plus particulièrement dans celui du phylloplan, mérite d'être confirmée.

Dans le sous-ensemble des champignons propres au phylloplan, les deux éléments les plus fréquemment observés relèveraient plutôt du groupe des saprophytes colonisateurs à spectre d'hôtes restreint ou hôte-spécifiques. Ce sous-ensemble comporte également un cortège d'espèces ayant pour la plu-

part montré de faibles ou très faibles fréquences de présence et pour lesquelles la dénomination d'élément fortuit du phylloplan introduite par DICKINSON (1967) paraît convenir, ce qui permet de les distinguer des champignons plus actifs dans ce biotope. Enfin, dans le sous-ensemble des champignons décelés uniquement sur la litière, les éléments les plus constants sont deux ascomycètes inféodés aux FM de Charme et deux prédateurs de nématodes ; ces caractéristiques biologiques expliquent leur confinement au niveau de la surface du sol. On retrouve là aussi un cortège de micromycètes saprophytes s'observant généralement sur de la matière végétale en voie de décomposition et, pour la plupart, détectés une ou deux fois seulement dans les réplicats FM.

En ce qui concerne la localisation des champignons dans ces deux habitats, plusieurs travaux précédents présentent, dans le cas des essences caducifoliées et malgré quelques variantes dans le détail, des observations générales en accord avec celles dégagées pour le Charme (HOGG et HUDSON, 1966 ; RUSCOE, 1971 ; WILDMAN et PARKINSON, 1979). Schématiquement, d'après ces travaux, il apparaît que les feuilles sont d'abord colonisées sur l'arbre par des champignons hôte-spécifiques et ceux à spectre d'hôtes restreint ; ceux-ci sont suivis par le groupe des saprophytes colonisateurs primaires, présent dans sa totalité ou en partie dans le phylloplan de ces essences caducifoliées ou dans celui d'autres plantes (MISHRA et DICKINSON, 1981). Après la chute des feuilles, ces saprophytes primaires persistent au niveau de la litière où ils sont rejoints par d'autres champignons. C'est ce groupe de saprophytes colonisateurs primaires qui concrétise les affinités communes aux mycoflores actives sur les feuilles vertes et les litières fraîches des plantes examinées. Étudiant la colonisation fongique des feuilles d'*Ilex aquifolium*, MISHRA et DICKINSON (1981) ont noté que les FM de cette plante constituent un refuge durant l'hiver pour les éléments de son phylloplan ; de plus, plusieurs champignons filamenteux dominants dans ce biotope sporulent sur les feuilles fraîchement tombées et peuvent donc à nouveau être distribués dans le phylloplan par transport aérien de leurs éléments de propagation, confirmant ainsi l'existence de liens significatifs à double sens entre les mycoflores des FV et des FM.

III. — CONCLUSION

Sur le plan technique, le screening continu pendant 30 j., de seulement deux échantillons mensuels de feuilles entières et de demi-feuilles incubées en CH, a abouti au recensement d'un nombre comparable mais élevé de micromycètes dans le phylloplan du Charme et dans ses feuilles mortes mais non décomposées : 45 et 47 éléments fongiques respectivement. Ces deux mycoflores correspondent, avec les quelques champignons additionnels uniquement détectés à partir des eaux de lavage de disques foliaires vivants ou de fragments stérilisés ou non de ces derniers, à un ensemble floristique regroupant soixante-seize composants. HERING (1965) paraît être le seul à avoir appliqué une telle procédure, mais avec quelques variantes, pour l'étude de la colonisation fongique des feuilles de certaines essences caducifoliées ; cet auteur a utilisé des disques foliaires (diam. : 4 mm) examinés seulement

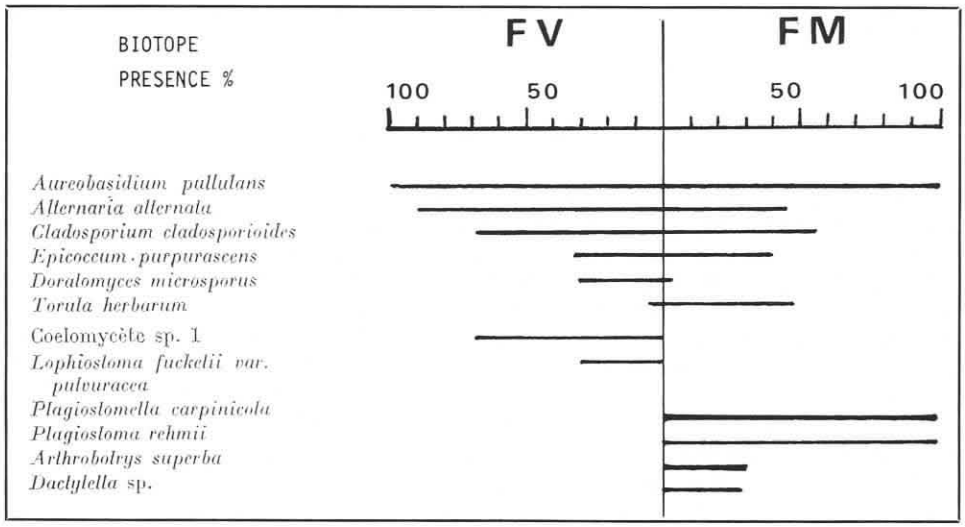
au bout de 15 j. et à la fin de la période d'incubation. Mais contrairement à nos observations, HERING précise que les champignons sporulants étaient très lents à se développer dans ces CH ; il est probable que plusieurs espèces à sporulation rapide ont échappé à son attention, comme le suggère d'ailleurs HUDSON (1968).

Outre la mise en évidence d'un spectre floristique important, le screening continu et prolongé de larges surfaces foliaires aboutit à une définition plus objective du groupe des espèces prépondérantes et donc les plus actives dans le phylloplan ou sur la litière ainsi qu'une délimitation plus large de leurs éléments fongiques peu fréquents ou rares ; cette procédure conduit à une description plus précise des liens floristiques prévalents entre les mycoflores des feuilles vivantes et mortes du Charme. Cependant, comme le souligne LINDSEY (1976) et comme il ressort des analyses effectuées, seule une utilisation simultanée de techniques d'observation directe et culturales permet de saisir, de manière cohérente, les diverses caractéristiques des micromycètes colonisant les surfaces foliaires des plantes.

D'autre part, les deux relevés floristiques mensuels respectifs du phylloplan et de la litière font apparaître l'existence d'un groupe constant de champignons, bien pourvu en espèces, ayant exprimé dans chaque série chambre humide des fréquences relatives fortes ou moyennes ; il s'en dégage une absence d'un processus de remplacement progressif d'origine temporelle d'espèces prépondérantes par d'autres, processus qui se serait peut-être concrétisé si les analyses fongiques avaient porté sur des échantillons représentant les diverses phases du cycle de vie des feuilles du Charme. Dans

TAB. VIII

Caractéristiques floristiques communes et distinctes des mycoflores respectives du phylloplan (F V) et de la litière (F M) de Charme



le cas des feuilles vertes, ce groupe constant comporte des champignons désignés comme saprophytes colonisateurs primaires, déjà observés dans d'autres phylloplans, et des éléments dont la nature des liens avec les FV des essences caducifoliées reste à préciser ; de ces champignons, seul un petit nombre s'est avéré capable de s'implanter à l'intérieur des feuilles, observation conforme à celle dégagée pour d'autres plantes (HOGG et HUDSON, 1966 ; RUSCOE, 1971 ; WILDMAN et PARKINSON, 1979). A travers ces résultats apparaît aussi l'organisation des éléments de ces deux mycoflores dans l'espace, facteur important pour la compréhension de la structure et du fonctionnement des populations fongiques colonisant les organes foliaires du Charme. Au niveau de la litière, on retrouve alors avec des fréquences relatives fortes ou moyennes, la plupart des saprophytes primaires du phylloplan en association avec des espèces intimement liées aux FM du Charme ou ayant des liens biologiques particuliers (Tab. VIII). La compréhension du mécanisme de la colonisation fongique des feuilles d'une essence caducifoliée implique donc obligatoirement l'étude concomitante des feuilles situées au dessus du sol et de celles gisant à sa surface.

RÉSUMÉ

Une étude préliminaire de la colonisation fongique des feuilles vivantes et de litière de Charme, collectées au printemps (mai et juin) a été entreprise en utilisant trois techniques complémentaires. Dans le cas du phylloplan, le screening continu pendant 30 j. de larges surfaces foliaires incubées en chambre humide, réalisé pour la première fois, aboutit au recensement d'un nombre élevé de micromycètes ; pour ces feuilles vivantes, la charge sporale estimée par lavage de leurs disques s'y avère apparemment peu élevée et la stérilisation superficielle de fragments foliaires révèle que seuls quatre champignons sont endophytes. Ces trois techniques délimitent pour les deux échantillons mensuels examinés une mycoflore comportant 55 éléments. Dans le cas de la litière, l'emploi de la seule méthode d'observation directe souligne la présence dans les réplicats d'une mycoflore regroupant 47 espèces et groupes d'espèces, un spectre floristique à contenu comparable à celui mis en évidence dans les mêmes conditions pour les feuilles vivantes. Au total, 76 éléments fongiques ont été dénombrés à partir des organes foliaires échantillonnés.

La synthèse des observations des seules séries chambre humide démontre l'existence, dans les deux relevés floristiques mensuels du phylloplan et de la litière, d'un groupe constant de champignons, bien pourvu en espèces, rassemblant dans chaque cas les éléments les plus fréquemment observés. De plus, l'étude de la localisation dans l'espace des composants de ces deux mycoflores souligne les liens floristiques étroits existant entre elles, résultant de la présence conjointe d'un tiers du total de leurs éléments fongiques (67 espèces et groupes d'espèces). Cette synthèse confirme également que le mode de colonisation fongique de feuilles du Charme se conforme au schéma général de ce processus préalablement établi pour d'autres essences caducifoliées ; on note cependant quelques variantes dans le détail en raison de l'intervention dans le cas du Charme d'espèces fongiques particulières. On retrouve ainsi sur les feuilles vivantes examinées, le groupe des saprophytes colonisateurs primaires ubiquistes, ici composé de *Aureobasidium pullulans*, *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides* et *Epicoccum purpurascens*, prépondérants dans ce phylloplan ; *Doratomyces microsporus*, *Coelomycète* sp. 1 et *Lophiostoma fuckelli* var. *pulvuracea* non encore signalés dans les phyllosphères, y sont également présents avec des fréquences relatives élevées. A l'exception des deux

dernières espèces, tous ces micromycètes se rencontrent aussi sur les échantillons de la litière avec des fréquences relatives comparables ou atténuées ; sur ces feuilles mortes, *Torula herbarum* manifeste une activité marquée et deux ascomycètes qui leurs sont spécifiques s'avèrent omniprésents. Il se confirme que l'examen prolongé de larges surfaces foliaires incubées aboutit à une définition plus rigoureuse des éléments fongiques prépondérants dans l'un ou l'autre des deux biotopes considérés et, en corollaire, de ceux pour lesquels la discontinuité spatiale ne constitue pas une entrave à leur développement. Cette pratique permet également la détection de champignons ayant des vitesses de croissance et de sporulation moins soutenues, qu'ils soient prépondérants ou non sur ces feuilles, une délimitation élargie des éléments dits accidentels dans les phyllosphères et enfin des espèces se caractérisant par des liens biologiques particuliers dans le phylloplan ou sur la litière.

ABSTRACT

Fungal colonisation of living and litter leaves of *Carpinus betulus* L. : a preliminary investigation

Green and litter hornbeam leaves, sampled in May and June, were examined for colonisation by fungi. For phylloplane samples, continuous screening during 30 d. of large foliar surfaces incubated in damp-chambers disclosed the presence of a relatively high number of species and groups of species. Washing of living leaf discs shows estimates of fungal spore load not to be marked and only four fungi were isolated from surface sterilised leaf fragments. All over 55 fungal elements were recorded on aerial leaves. Examination of litter samples solely by a direct observation technique led to the detection of 47 species and groups of species, a total of fungi close to the one recorded under the same conditions on living leaves. On the whole, the presence of 76 fungal elements was noted.

A comparison of the two monthly lists of fungi established from phylloplane damp-chambers reveals the presence of a constant group comprising a good number of species representing the most frequently observed ones in these chambers; the same holds true while comparing the two lists of litter fungi. Besides synthesis of damp-chambers data shows that one-third of the 67 fungal elements detected were recorded on both living and dead leaves, suggesting the presence of tight links between their respective mycofloras. Available data indicates that the pattern of hornbeam leaves fungal colonisation follows the general scheme previously established for aerial and above-ground deciduous leaves with however some deviations due to the intervention of fungi apparently particular to *Carpinus betulus*. On hornbeam green leaves, prevalent common primary saprophytes are *Aureobasidium pullulans*, *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides* and *Epicoccum purpurascens*; on this substrate, *Doratomyces microsporus*, Coelomycete sp. 1 and *Lophiostoma fuckelii* var. *pulvuracea*, not yet recorded in the phyllosphere, also disclosed high or medium frequencies of occurrence. On fallen leaves and excepting the two last-mentionned fungi, all the others were observed with comparable or attenuated frequencies of occurrence; in this litter, *Torula herbarum* showed a marked activity and two host-sepecific ascomycetes proved to be omnipresent. It is concluded that prolonged continuous screening during 30 d. of large foliar surfaces leads to a more rigorous definition of the microfungal group prevalent on either or both aerial or above-ground leaves. This procedure also enables the detection of rare or prevalent slow-growing fungi, a much wider delimitation of phylloplane casual inhabitants and, finally, of microfungi having particular biological links in the phylloplane or in litter leaves.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier M. P. BLANDIN, du Laboratoire de Zoologie de l'E.N.S. de Paris, pour nous avoir facilité l'accès à la Station Biologique de Foljuif, Fontainebleau.

BIBLIOGRAPHIE

ANDREWS (J. H.) et KENERLY (C. M.), 1978. — The effects of a pesticide program on non-target epiphytic microbial populations of apple leaves. *Can. J. Microbiol.*, **24**: 1058-1072.

BLAKEMAN (J. P.), 1981. — *Microbial ecology of the phylloplane.* Academic Press, 502 pp.

BREEZE (E. M.) et DIX (N. J.), 1981. — Seasonal analysis of the fungal community of *Acer platanoides* leaves. *Trans. Brit. mycol. Soc.*, **77**: 321-328.

CHESTERS (C. G. C.) et BELL (A.), 1970. — Studies in the *Lophiostomataceae* Sacc. *Mycol. Pap.*, **120**: 1-55.

DAVIES (F. R.), 1935. — The superiority of silver nitrate over mercuric chloride for the surface sterilisation of seeds in the isolation of *Ophiobolus graminis*. *Can. J. Res.*, **13**: 168-173.

DICKINSON (C. H.), 1965. — The mycoflora associated with *Halimione portulacoides*. III. Fungi on green and moribund leaves. *Trans. Brit. mycol. Soc.*, **48**: 603-610.

DICKINSON (C. H.), 1967. — Fungal colonisation of *Pisum* leaves. *Can. J. Bot.*, **45**: 915-927.

DICKINSON (C. H.), 1976. — Fungi on the aerial surfaces of higher plants. *In: Microbiology of aerial plant surfaces.* (Eds. C. H. DICKINSON et T. F. PREECE). Academic Press, pp. 293-324.

DICKINSON (C. H.) et PUGH (G. J. F.), 1974. — *Biology of plant litter decomposition.* Vols. I et II. Academic Press.

DICKINSON (C. H.) et PREECE (T. F.), 1976. — *Microbiology of aerial plant surfaces.* Academic Press, 669 pp.

DOMSCH (K. H.), GAMS (W.) et ANDERSON (T. H.), 1980. — *Compendium of soil fungi.* Academic Press.

EGGINS (H. O. W.) et PUGH (G. S. F.), 1962. — Isolation of cellulose-decomposing fungi from the soil. *Nature, London*, **193**: 94-95.

FOURNIER (P.), 1961. — *Les quatre flores de France.* [Éd. P. Lechevalier, Paris, 1105 pp.

FRIEND (R. J.), 1965. — A study of sooty mould on lime trees *(Tillia x vulgaris)*. *Trans. Brit. mycol. Soc.*, **48**: 367-370.

HERING (T. F.), 1965. — Succession of fungi in the litter of a lake district oakwood. *Trans. Brit. mycol. Soc.*, **48**: 391-408.

HOGG (B. M.) et HUDSON (H. J.), 1966. — Micro-fungi on leaves of *Fagus sylvatica*. I. The micro-fungal succession. *Trans. Brit. mycol. Soc.*, **49**: 185-192.

HUDSON (H. J.), 1968. — The ecology of fungi on plant remains above the soil. *New Phytol.*, **17**: 837-874.

JENSEN (V.), 1974. — Decomposition of Angiosperm tree leaf litter. *In: Biology of Plant Litter Decomposition.* (Eds. C. H. DICKINSON et G. J. F. PUGH), Academic Press, vol. 1, pp. 69-104.

KEYWORTH (W. G.), 1951. — A Petri dish moist chamber. *Trans. Brit. mycol. Soc.*, **34**: 291-292.

LINDSEY (B. I.), 1976. — A survey of methods in the study of microfungal succession on leaf surfaces. *In: Microbiology of aerial plant surfaces.* (Eds. T. F. PREECE et C. H. DICKINSON), Academic Press, pp. 217-222.

LINDSEY (B. I.) et PUGH (G. J. F.), 1976. — Succession of microfungi on attached leaves of *Hippophae rhamnoides. Trans. Brit. mycol. Soc.*, **67**: 61-67.

MISHRA (R. R.) et DICKINSON (C. H.), 1981. — Phylloplane and litter fungi of *Ilex aquifolium. Trans. Brit. mycol. Soc.*, **77**: 329-337.

MULLER (E.) et ARX (J. A.) von, 1962. — Die Gattungen der didymosporen pyrenomyceten. *Beit. Kryptogam. Schweiz*, **11**: 1-922.

PREECE (T. F.) et DICKINSON (C. H.), 1971. — *Ecology of leaf surface micro-organisms.* Academic Press, 640 pp.

PROTH (J.), 1978. — Évolution de la microflore d'une rendzine forestière récemment privée de ses apports naturels en litière de Charme. Étude microbiologique et ultrastructurale. Thèse Doctorat 3e cycle, Université de Nancy I, France.

PUGH (G. J. F.) et BUCKLEY (N. G.), 1971 a. — *Aureobasidium pullulans:* an endophyte in sycamore and other trees. *Trans. Brit. mycol. Soc.*, **57**: 227-231.

PUGH (G. J. F.) et BUCKLEY (N. G.), 1971 b. — The leaf surface as a substrate for colonisation by fungi. *In: Ecology of leaf surface micro-organisms.* (Eds. T. F. PREECE et C. H. DICKINSON), Academic Press, pp. 431-445.

RODGER (G.) et BLAKEMAN (J. P.), 1984. — Microbial colonisation and uptake of ^{14}C label on leaves of sycamore. *Trans. Brit. mycol. Soc.*, **82**: 45-51.

RUINEN (J.), 1961. — The phyllosphere. I. An ecologically neglected *milieu. Pl. Soil*, **15**: 81-109.

RUSCOE (Q. W.), 1971. — Mycoflora of living and dead leaves of *Nothofagus truncata. Trans. Brit. mycol. Soc.*, **56**: 463-474.

SAITO (T.), 1956. — Microbial decomposition of beach litter. *Ecol. Rev.*, **14**: 141-147.

SMIT (J.) et WIERINGA (K. T.), 1953. — Microbiological decomposition of litter. *Nature, London*, **171**: 794.

SUTTON (B. C.), 1980. — *The Coelomycetes.* Commonw. Mycol. Inst., 696 pp.

VISSER (S.) et PARKINSON (D.), 1975. — Fungal succession on aspen poplar leaf litter. *Can. J. Bot.*, **53**: 1640-1651.

WEBSTER (J.), 1956. — Succession of fungi on decaying cocks-foot culms. I. *J. Ecol.*, **44**: 517-544.

WILDMAN (H. G.) et PARKINSON (D.), 1979. — Microfungal succession on living leaves of *Populus tremuloides. Can. J. Bot.*, **57**: 2800-2811.

WITKAMP (J.), 1956. — Seasonal fluctuations in the fungus flora in mull and mor of an oak forest. *Meded. Inst. Toegepast. Biol. Onderz. Nat.*, **46**: 1-51.